

ABSTRACT

Studies of novel micromethods for determination of various micropollutants and biomarkers in selected environmental and/or technological processes related to surface water ecosystems and wastewater treatment

Bożena Fenert

This PhD thesis is predominantly focuses on the development of miniaturized analytical systems enabling fast and non-expensive determination of various biomarkers and micropollutants in complex environmental samples. Presented manuscript includes extensive research in literature concerning the priority substances problem that was highlighted in the European Union Water Framework Directive (200/60/EC). Data obtained in the search of literature in the field related to low-molecular mass pollutants which are present in surface water and sewage, was summarized and critically discussed. In this PhD thesis both targeted and non-targeted analytical approaches were presented. Some new concepts of chlorophyll dyes and related low-molecular mass target component analysis using environmentally friendly selective biopolymers as an adsorption media have been revealed and discussed. Analytical data concerning the application of biomaterials such as cellulose paper or the pappus of dandelion seed structures as stationary phases for micro-thin-layer chromatography or extraction matrices for isolation of micropollutants/biomarkers from water ecosystems have been reported. A number of new analytical protocols involving micro-planar separation techniques (NP: normal phase and RP: reverse phase - types) are proposed for the first time and optimized for qualitative and quantitative or semi-quantitative determinations of target substances in the water phase. In particular, the main analytical research deals with micro-planar chromatography (micro-TLC) optimization, separation and quantification of chlorophyll dyes that were present in surface water ecosystems and from spirulina cells and spinach leaf tissue. Chlorophyll dyes were selected as the main components of interest due to the potential ability of such macrocyclic substances to adsorb and transport of low-molecular mass chemicals in water. Moreover, they are relatively easy to detect on micro-plates and are present in various forms in surface water, enabling comparison of ecosystems. Analysis of number of physicochemical

parameters and chromatographic profiles from samples collected from various waters (lakes from Central Pomerania area, the Baltic Sea: Kołobrzeg and Bornholm areas) and during technological processes of wastewater treatment in "Jamno" Municipal Wastewater Treatment Plant (JMWTP) were performed. The analytical protocols proposed involved different target components extraction methods using direct adsorption on biopolymers - cellulose, modified cellulose, dandelion pappus or solid-phase extraction (SPE) and then: *(i)* separation by micro-TLC, *(ii)* detection using fluorescence and *(iii)* data analysis involving multivariate statistics (principal component analysis; PCA). Semi-quantitative analysis clearly indicates that chlorophyll dyes are synthesized during technological processes of sewage treatment and are subsequently released to the environment by the JMWTP. Based on the number of micro-TLC chromatograms, chlorophyll dyes presence in different ecosystems were estimated and discussed. Most importantly, all non-targeted and targeted studies reported in this PhD thesis can easily be adapted for use in portable analytical devices and quantitative results may be acquired using common mobile phone cameras.

Bożena Fajkut

STRESZCZENIE

Badania nowych mikrometod oznaczania różnych mikrozanieczyszczeń i biomarkerów w wybranych procesach środowiskowych i/lub technologicznych dotyczących ekosystemów wód powierzchniowych oraz w procesach oczyszczania ścieków

Bożena Fenert

Niniejsza rozprawa doktorska poświęcona jest opracowaniu oraz zastosowaniu zminiaturyzowanych metod analitycznych, umożliwiających szybkie i tanie oznaczanie różnych biomarkerów, a także mikrozanieczyszczeń w złożonych próbkach środowiskowych. Prezentowana praca zawiera przegląd literatury naukowej dotyczącej tematu substancji priorytetowych, które są wyszczególnione w dyrektywach europejskich (*The European Union Water Framework Directive 200/60/EC*). Ponadto, poddano dyskusji przegląd najnowszych publikacji naukowych, dotyczących niskocząsteczkowych, organicznych mikrozanieczyszczeń ekosystemów wodnych oraz ścieków.

W rozprawie doktorskiej przedstawiono dwa główne podejścia analityczne: tzw. celowaną oraz niecelowaną analizę mikrozanieczyszczeń i biomarkerów wyizolowanych z próbek wody (ang. target analysis; non-target analysis). Ponadto, opisano nowe metody analityczne wykorzystane do oznaczania barwników chlorofilowych i niskocząsteczkowych związków organicznych przy użyciu, jako adsorbentów, selektywnych i przyjaznych środowisku biopolimerów. W szczególności badano zastosowanie celulozy i celulozy modyfikowanej *n*-alkanami oraz filamentów puchu mniszka lekarskiego - jako matryce do adsorpcji mikrozanieczyszczeń i biomarkerów z próbek ekosystemów wodnych. Dodatkowo celuloza była testowana jako faza stacjonarna do frakcjonowania badanych związków. Po raz pierwszy opisano szereg nowych procedur analitycznych dotyczących rozdzielania analitów przy użyciu technik mikroplanarnych (typu NP: Normal Phase, oraz RP: Revers Phase). W pracy badawczej przedstawiono wyniki optymalizacji rozdzielania i analizy ilościowej barwników chlorofilowych, wyizolowanych z próbek środowiskowych oraz materiałów biologicznych (komórki spiruliny i tkanki liści szpinaku). Jako związki modelowe wybrano barwniki chlorofilowe, ze względu na łatwość ich rozdzielania i detekcji metodą mikro-TLC, jak również na ich potencjalną zdolność do

kompleksowania i przenoszenia mikrozanieczyszczeń w ekosystemach wodnych. Wykazano, iż analiza ilościowa tych związków umożliwia porównywanie i klasyfikację ekosystemów wodnych.

W pracy przedstawiono również analizę wybranych parametrów fizykochemicznych oraz analizę profili chromatograficznych szeregu próbek pobranych z jezior Pomorza Środkowego oraz Morza Bałtyckiego, okolic portu Kołobrzeg i Borholmu. Poza tym, poddano analizie chromatogramy powstałe z próbek pobieranych podczas różnych etapów procesów technologicznych oczyszczania ścieków komunalnych w Oczyszczalni Ścieków "Jamno". W powyższych próbkach dokonano oszacowania ilości rozdzielonych barwników chlorofilowych. Do tego celu wykorzystano opracowane procedury: adsorpcję analitów na wyżej wymienionych biopolimerach oraz klasyczną ekstrakcję do fazy stałej (SPE; solid-phase extraction). Analiza ilościowa oparta była o: rozdzielanie mikro-TLC analitów (*i*), pomiar fluorescencji plamek na mikroplówkach (*ii*) i analizę uzyskanych danych w oparciu o procedury statystyki wielowariancyjnej (analiza czynnikowa; PCA - principal component analysis) (*iii*). Dokonana ocena ilościowa wskazuje na fakt, iż w trakcie procesów technologicznych w oczyszczalni ścieków Jamno wytwarzana jest znacząca ilość barwników chlorofilowych. Substancje te przedostają się do środowiska wodnego poprzez ściek oczyszczony, w ilości o rząd wielkości większej niż ich typowa zawartość w wodach powierzchniowych. W pracy zaprezentowano wyniki porównawcze zawartości barwników chlorofilowych w różnych ekosystemach wodnych.

Zaproponowana w pracy doktorskiej metodologia umożliwia zaadaptowanie do użytku w celach detekcji przenośnych urządzeń analitycznych, takich jak aparaty fotograficzne w telefonach komórkowych.

Bożena Flucik